

بررسی تاثیر عصاره زیره سبز (*Cuminum cyminum*) بر فعالیت آنزیم پاراکسوناز-۱

دکتر کیهان قطره سامانی*، عفت فرخی**، دکتر محمود رفیعیان***، دکتر رحمت اله ربیعی†

مسعود صادقی††

*دکتری بیوشیمی - مرکز تحقیقات گیاهان دارویی-دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، **کارشناس ارشد بیوشیمی-مرکز تحقیقات سلولی، مولکولی-

دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، ***استاد فارماکولوژی-مرکز تحقیقات گیاهان دارویی-دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، †استادیار گروه داخلی-

دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، ††آمربی گروه بافت شناسی-دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد.

تاریخ دریافت: ۸۸/۴/۸ تاریخ تایید: ۸۸/۱۲/۱۱

چکیده:

زمینه و هدف: زیره سبز دارای خاصیت آنتی اکسیدانی است و احتمالاً می تواند باعث کاهش اکسیداسیون لیپیدها گردد. آنزیم پاراکسوناز ۱ همراه با HDL در خون حرکت می کند. این آنزیم با هیدرولیز کردن فسفولیپیدهای اکسید شده یک نقش حفاظتی در برابر اکسیداسیون لیپوپروتئین ها دارد. هدف این مطالعه بررسی تاثیر زیره سبز بر سطح لیپوپروتئین های پلاسما و فعالیت آنزیم پاراکسوناز ۱ بوده است.

روش بررسی: در این مطالعه کارآزمایی بالینی ۹۱ بیمار با LDL کلسترول خون بیشتر از ۱۲۰ میلی گرم در دسی لیتر انتخاب و در ۲ گروه دریافت کنندگان زیره سبز و لواستاتین قرار گرفتند بطوری که دو گروه از نظر ویژگی های دموگرافیک، همسان بودند. قبل و بعد از مصرف زیره سبز و لواستاتین، پروفایل لیپیدی و فعالیت آنزیم پاراکسوناز ۱ در همه افراد اندازه گیری گردید و نتایج با استفاده از آزمون t، زوجی و ANOVA تجزیه و تحلیل گردید.

یافته ها: عصاره زیره سبز میزان قند خون و LDL اکسید شده را کاهش و فعالیت آریل استرازی آنزیم پاراکسوناز (PON1) را افزایش داد ($P<0/05$).

نتیجه گیری: با توجه به اینکه زیره سبز در مقایسه با لواستاتین تنها در افزایش فعالیت پاراکسوناز توانمندتر بوده است، به نظر می رسد اگر زیره سبز در کنار لواستاتین به عنوان مکمل بکار رود بتواند عدم تاثیر لواستاتین بر پاراکسوناز ۱ را پوشش داده و حتی باعث کاهش بیشتر LDL اکسید شده گردد.

واژه های کلیدی: زیره سبز، پاراکسوناز ۱، لیپوپروتئین با دانسیته پایین اکسید شده، لواستاتین.

مقدمه:

بر طبق مطالعات انجام شده دانه های گیاه زیره سبز دارای خاصیت آنتی اکسیدانی قابل مقایسه با ویتامین E می باشد (۹).

بیماری های قلبی عروقی عامل بسیاری از مرگ و میرها در جوامع مختلف است و لیپوپروتئین های پلاسما به ویژه لیپوپروتئین با دانسیته پایین (LDL-C) و لیپوپروتئین با دانسیته بالا (HDL-C) در بیماری قلبی و عروقی همواره یک نقش تعیین کننده داشته اند (۱۰). تشکیل پلاک های آترواسکلروز در دیواره عروق با

زیره سبز با نام علمی *Cuminum cyminum* گیاه علفی یک ساله و معطر بوده که میوه این گیاه قسمت دارویی آن می باشد.

فعالیت های فارماکولوژیکی متعدد همانند اثرات آنتی اکسیدانی و مقوی معده (۱)، ضد سرطان (۲) و مهار تجمع پلاکت ها برای زیره سبز ذکر شده است (۳). از این گیاه در درمان نفخ و سوء هاضمه و همچنین جهت ازدیاد شیر استفاده می شود (۴-۷). همچنین تاثیر این گیاه بر روی میکرو ارگانسیم های گرم مثبت نشان داده شده است (۸).

تجمع ذرات LDL و به دنبال آن اکسیداسیون آنها و ترکیب پاسخ های التهابی سلولی با این پدیده اتفاق می افتد (۱۱). ماهیت آتروژنیک LDL بواسطه تبدیل آن به LDL اکسید شده می باشد که این ترکیب باعث تولید التهاب و تشکیل آتروم اولیه در دیواره عروق می گردد (۱۲).

خواص عمده HDL مربوط به پروتئین های همراه آن می باشد. خاصیت آنتی اکسیدانی HDL مربوط به آنزیم پاراکسوناز ۱ (PON1) بوده که به HDL متصل شده و همراه آن در خون حرکت می کند (۱۳). ثابت شده است که PON1 خاصیت آنتی آتروژنیک داشته که از طریق هیدرولیز بیولوژیک فسفولیپیدهای اکسید صورت می گیرد (۱۳).

با توجه به خاصیت آنتی اکسیدانی گیاه زیره سبز انتظار می رود مصرف آن باعث افزایش سطح فعالیت پاراکسوناز ۱ در پلاسما شده در نتیجه مصرف آن با کاهش خطر بیماری قلبی عروقی همراه باشد. هدف این مطالعه بررسی تاثیر زیره سبز بر فعالیت آنزیم پاراکسوناز ۱ و همچنین تاثیر این گیاه بر بعضی ریسک فاکتورهای بیماری قلبی عروقی می باشد.

روش بررسی:

مطالعه از نوع کارآزمایی بالینی (Clinical trial) می باشد. پس از موافقت کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد و ثبت در سایت بالینی وزارت بهداشت درمان و آموزش پزشکی با شماره ۱۳۸۹۰۲۰۶۳۸۰۶N۱ از بین بیماران مراجعه کننده به پزشک متخصص داخلی، بیمارانی که دارای LDL کلسترول خون بیشتر از ۱۲۰ میلی گرم در دسی لیتر بودند انتخاب شدند و در ۲ گروه قرار گرفتند. (گروه زیره سبز ۳۹ نفر و گروه لواستاتین ۵۲ نفر). به طریقی که از نظر سن، جنس، مصرف سیگار و ورزش، همسان شدند. گروه اول عصاره گیاه زیره سبز و گروه دوم قرص لواستاتین دریافت نمودند. عصاره زیره سبز از شرکت باريج اسانس تهیه گردید.

مقدار دوز مصرفی در مورد زیره سبز با توجه به دستورالعمل شرکت سازنده و نظر متخصص داخلی روزانه یک میلی لیتر عصاره ۲ درصد (دو وعده نیم میلی لیتری با یک لیوان آب) تعیین گردید. دوز مصرفی برای لواستاتین طبق دستور پزشک ۴۰mg/day تعیین شد.

افراد با بیماری های متابولیک نظیر دیابت یا بیماری های کلیوی، تیروئیدی یا کبدی از مطالعه حذف شدند.

در شروع مطالعه و ۴۵ روز پس از مصرف عصاره گیاه زیره سبز و لواستاتین در هر گروه، از همه افراد دو گروه ۵ میلی لیتر خون لخته به صورت ناشتا گرفته شد. نمونه خون گرفته شده قبل و بعد از مطالعه جهت آزمایشات بیوشیمیایی به لوله شیشه ای منتقل شده و در کمتر از نیم ساعت سرم نمونه ها با استفاده از سانتریفیوژ با دور ۳۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه از قسمت لخته جدا گردید و در دمای ۲۰- درجه تا زمان مناسب نگهداری شدند. بر روی نمونه ها، آزمایشات مربوط به پروفایل لیپیدی شامل کلسترول و تری گلیسرید به روش آنزیمی، HDL و LDL به روش مستقیم همچنین آپولیپوپروتئین A1 (ApoA1) و آپولیپوپروتئین B (ApoB) به روش ایمونوتوربیدومتریک با استفاده از کیت های تجارتی شرکت پارس آزمون (ساخت ایران) و با استفاده از دستگاه اتوآنالیزور (BT 3000 فرانسه) انجام شد. LDL اکسید شده به روش الیزا (Mercodia-سوئد) و فعالیت آریل استراز آنزیم PON1 با استفاده از روش اسپکتروفتومتری اندازه گیری شد (۱۴).

پس از انجام آزمایشات در پایان مطالعه داده های بدست آمده از طریق آزمون t، زوجی و Anova مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

یافته ها:

در این مطالعه افراد مورد مطالعه در دو گروه زیره سبز ۳۹ نفر با میانگین سنی $48 \pm 10/5$ سال و نمایه توده بدنی $25 \pm 3/7$ kg/m² و گروه لواستاتین ۵۲ نفر با میانگین سنی $52 \pm 11/6$ سال و نمایه توده بدنی $26 \pm 4/9$ kg/m²

اختلاف معنی دار مشاهده گردید ($P < 0/05$). عصاره زیره سبزمیزان قند خون و LDL اکسید شده را کاهش و فعالیت آریل استرازی آنزیم پاراکسوناز (PON1) را افزایش داد ($P < 0/05$) (جدول شماره ۱).

در این مطالعه لواستاتین که داروی مهار کننده بیوسنتز کلسترول آندوژن می باشد سطح کلسترول تام، LDL-C، ApoB و oxLDL را کاهش داد.

قرار گرفتند. از نظر ویژگی های دموگرافیک مانند سن، جنس، نمایه توده بدنی (BMI) و مصرف سیگار در افراد مورد مطالعه اختلاف معنی دار در دو گروه دیده نشد ($P > 0/05$).

نتایج نشان داد عصاره زیره سبز تنها بر روی میزان قند خون، LDL اکسید شده و فعالیت آریل استرازی آنزیم پاراکسوناز (PON1) تاثیر داشته و تنها در این موارد

جدول شماره ۱: تاثیر زیره سبز و لواستاتین بر متغیرهای مورد مطالعه

متغیر	گروه	عصاره زیره		لواستاتین	
		قبل از مطالعه	بعد از مصرف	Pvalue	قبل از مطالعه
نمای توده بدنی (kg/m ²)		۲۵±۳/۷	۲۵±۳/۹	۰/۲۵	۲۶±۴/۹
قند ناشتا (mg/dl)		۹۷±۱۵/۸	۹۰±۱۰/۵	۰/۰۴۱	۸۸±۱۲/۶
کلسترول تام (mg/dl)		۲۳۸±۵۰/۲	۲۳۴±۴۵/۱	۰/۶۲۴	۲۳۵±۲۹/۴
تری گلیسرید (mg/dl)		۲۷۴±۱۸۸/۲	۲۵۲±۱۴۲/۱	۰/۳۶۶	۱۸۹±۶۰/۷
HDL-C (mg/dl)		۴۵±۶/۸	۴۵±۶/۶	۰/۸۱۲	۴۱±۹/۵
LDL-C (mg/dl)		۱۵۸±۴۷/۸	۱۵۴±۴۲/۸	۰/۲۴۹	۱۳۹±۲۸/۹
ApoA1 (mg/dl)		۱۴۶±۲۸/۱	۱۴۴±۲۶/۷	۰/۲۹۶	۱۲۳±۲۱/۵
ApoB (mg/dl)		۱۱۶±۱۹/۴	۱۱۶±۱۹/۸	۰/۹۵۴	۱۲۵±۲۹/۶
LDL اکسید شده (U/L)		۸۵±۱۴/۷	۷۸±۱۲/۴	۰/۰۱۱	۸۶±۱۴/۴
فعالیت آنزیم PON1 (U/L)		۸۷±۱۶/۷	۱۰۵±۲۶/۹	۰/۰۲۱	۱۰۶±۲۵/۶

- داده ها به صورت "انحراف معیار±میانگین" می باشد.

بحث:

سرطان و یا مهار سرطان است و این مهار احتمالاً با کاهش رادیکال های آزاد صورت می گیرد. لذا کاهش رادیکال های آزاد گزارش شده (۱۶) می تواند دلیلی بر کاهش LDL اکسید شده در مطالعه حاضر باشد.

زیره سبز در حیواناتی که با روغن آفتاب گردان اکسید شده تغذیه شده بودند توانسته اثر محافظت کنندگی در برابر سمیت این روغن های اکسید شده نشان دهد (۱۷). یکی از دلایل این عمل می تواند این باشد که زیره سبز آنزیم هایی را فعال نموده که باعث برگشت روغن اکسیده شده به حالت اولیه (غیر اکسید) شده است. در مطالعه ما فعالیت پاراکسوناز ۱ به دنبال

در این مطالعه مصرف عصاره زیره سبز موجب کاهش LDL اکسید شده و قند خون ناشتا و همچنین افزایش فعالیت پاراکسوناز ۱ در گیرندگان این عصاره گردید. این عصاره تاثیر قابل ملاحظه ای بر متغیرهای دیگر مطالعه نداشت.

تاثیر عصاره زیره سبز در کاهش LDL اکسید شده می تواند ناشی از خواص آنتی اکسیدانی زیره سبز باشد (۱). با توجه به اینکه وجود فلاونوئیدها در زیره سبز قبلاً ثابت شده است (۱۵) احتمالاً ترکیبات فلاونوئید موجود در زیره سبز باعث کاهش LDL اکسید شده در مطالعه حاضر شده است. فلاونوئیدها از ترکیبات موثر زیره سبز در ممانعت از تولید

مصرف زیره سبز افزایش نشان داد. یکی از اعمال پاراکسوناز ۱ کاهش اکسیداسیون لیپیدهای پلازما است بنابراین نتایج این مطالعه با مطالعه ذکر شده در مورد روغن اکسید شده همسو است.

زیره سبز غنی از منگنز، روی و آهن است که می تواند به عنوان منبع تامین کننده این عناصر به ویژه آهن در افراد با فقر آهن باشد (۱۸). منگنز در ساختمان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (Superoxid dismutase) وجود دارد. زیره سبز بواسطه داشتن منگنز احتمالاً باعث فعال شدن این آنزیم شده و فعال شدن این آنزیم منجر به کاهش رادیکال های آزاد می گردد که این امر با کاهش LDL اکسید شده توام خواهد بود.

در این مطالعه زیره سبز بر پروفایل لیپیدی موثر نبوده است و تنها بر روی کلسترول تام تاثیر داشته است که اندکی باعث کاهش آن شده است. گرچه LDL-C نیز کمی کاهش داشته ولی در هر دو از نظر آماری اختلاف معنی دار دیده نشد. این در حالی است که اثر هیپولیپیدمیک زیره سبز قبلاً در حیوانات آزمایشگاهی گزارش شده است (۱۹).

در مطالعه Dhandapani و همکاران مشاهده گردیده که زیره سبز از کاهش وزن جلوگیری کرده و باعث کاهش کلسترول، تری گلیسرید و فسفولیپیدها در بافت و خون حیوانات آزمایشگاهی مبتلا به دیابت شده است (۱۹). این در حالی است که در مطالعه ما این تاثیر بر روی کلسترول، تری گلیسرید و LDL-C بطور کامل دیده نشد. کاهش قند که در حیوانات آزمایشگاهی مطالعه فوق مشاهده شده تا حدی در مطالعه ما نیز دیده شده است. در مورد ApoB نیز تغییری دیده نشد که احتمالاً از عدم تاثیر زیره سبز بر LDL-C ناشی شده است. البته عدم تغییر کلسترول تام در مصرف زیره سبز در افراد هائپرکلسترولمی نیز در بعضی موارد گزارش شده است. در مطالعه فوق حتی با دوز ۵ برابر مصرف معمول زیره سبز در انسان، در حیوانات آزمایشگاهی هائپرکلسترولمی شده، کاهش کلسترول دیده نشده است که با مطالعه ما همسو می باشد (۲۰).

در مطالعه حاضر تغییر در غلظت HDL-C و ApoA1 نیز دیده نشد. به نظر می رسد تنها تاثیر زیره سبز بر HDL در این مطالعه افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی HDL آن هم به واسطه افزایش فعالیت پاراکسوناز بوده است و زیره سبز بر ترکیبات HDL موثر نبوده است.

تاثیر عصاره زیره سبز بر روی قند خون می تواند ناشی از افزایش ترشح انسولین توسط ترکیبات این گیاه باشد. گزارش هایی مبنی بر تاثیر احتمالی زیره سبز بر قند خون موجود است که با این مطالعه همسو می باشد (۲۱، ۲۲). البته نبودن اختلاف قابل ملاحظه تر در میزان قند خون در این مطالعه شاید به این دلیل باشد که افراد مورد مطالعه در این طرح از نظر قند خون قبل از ورود به مطالعه آزمایش شده و در صورت بالا بودن قند از مطالعه حذف شدند. بنابراین طبیعی است وقتی تاثیر عصاره بر روی غلظت های طبیعی قند خون صورت گرفته باشد اختلاف کمتر دیده می شود.

نتیجه گیری:

از مقایسه تاثیر زیره سبز بر لیپیدها با لواستاتین، مشاهده گردید که زیره سبز با این دوز مصرفی در مقایسه با لواستاتین تنها در افزایش فعالیت پاراکسوناز توانمندتر بوده است و به هیچ عنوان نتوانسته اثر کاهش لواستاتین بر کلسترول و بویژه LDL-C را از خود بروز دهد. حتی در کاهش LDL اکسید شده هم زیره نتوانسته مانند لواستاتین عمل کند. به نظر می رسد اگر زیره سبز در کنار لواستاتین به عنوان مکمل بکار رود بتواند عدم تاثیر لواستاتین بر پاراکسوناز ۱ را پوشش داده و باعث کاهش بیشتر اکسید شده گردد که البته این مسئله نیاز به تحقیق بیشتر دارد.

تشکر و قدردانی:

بدینوسیله از کارکنان مرکز تحقیقاتی گیاهان دارویی و مرکز تحقیقات سلولی، مولکولی شهرکرد تشکر می نمایم. هزینه این مطالعه توسط معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد تامین شده است.

منابع:

1. Thippeswamy NB, Akhilender Naidu K. Antioxidant potency of cumin varieties (cumin, black cumin and bitter cumin) on antioxidant systems. *Eur Food Res Technol.* 2005 May; 220(5-6): 472-6.
2. Aruna K, Sivaramakrishnan VM, Aruna K, Sivaramakrishnan VM. Anticarcinogenic effects of some Indian plant products. *Food Chem Toxicol.* 1992 Nov; 30(11): 953-6.
3. Srivastava KC. Extracts from two frequently consumed spices--cumin (*Cuminum cyminum*) and turmeric (*Curcuma longa*)--inhibit platelet aggregation and alter eicosanoid biosynthesis in human blood platelets. 1989 Jul; 37(1): 57-64.
4. Polidori MC, Mecocci P, Stahl W, Parente B, Cecchetti R, Cherubini A. Plasma levels of lipophilic antioxidants in very old patients with type 2 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev.* 2000 Jan-Feb; 16(1): 15-9.
5. Pozzilli P, Visalli N, Cavallo MG, Signore A, Baroni MG, Buzzetti R, et al. Vitamin E and nicotinamide have similar effects in maintaining residual beta cell function in recent onset insulin-dependent diabetes (the IMDIAB IV study). *Eur J Endocrinol.* 1997 Sep; 137(3): 234-9.
6. Paolisso G, D'Amore A, Giugliano D, Ceriello A, Varricchio M, D'Onofrio F. Pharmacologic doses of vitamin E improves insulin action in healthy subjects and non-insulin-dependent diabetic patients. *Am J Clin Nutr.* 1993 May; 57(5): 650-6.
7. Khory RN, Katrak NN. *Materia medica of Indica and their therapeutics.* Delhi: Neeray Pub House; 1985. p: 285-6.
8. Ani V, Varadaraj MC, Akhilender K. Antioxidant and antibacterial activities of polyphenolic compounds from bitter cumin (*Cuminum nigrum L.*). *Eur Food Res Technol.* 2006; 224(1): 109-15.
9. Salonen JT, Nyyssonen K, Tuomainen TP, Maenpaa PH, Korpela H, Kaplan GA, et al. Increased risk of non-insulin dependent diabetes mellitus at low plasma vitamin E concentrations: a four year follow up study in men. *BMJ.* 1995 Oct; 311(7013): 1124-7.
10. Willer CJ, Sanna S, Jackson AU, Scuteri A, Bonnycastle LL, Clarke R. Newly identified loci that influence lipid concentrations and risk of coronary artery disease. *Nat Genet.* 2008 Feb; 40(2): 161-9.
11. Navab M, Anantharamaiah GM, Hama S, Garber DW, Chaddha M, Hough G, et al. Oral administration of an Apo A-I mimetic Peptide synthesized from D-amino acids dramatically reduces atherosclerosis in mice independent of plasma cholesterol. *Circulation.* 2002 Jan; 105(3): 290-2.
12. Himbergen TM, Roest M, Graaf J, Jansen HJM. Indications that paraoxonase-1 contributes to plasma high density lipoprotein levels in familial hypercholesterolemia. *J Lipid Res.* 2005 Mar; 46(4): 445-51.
13. Carey JNG, Shih DM, Hama SY, Villa N, Navab M, Reddy ST. The paraoxonase gene family and atherosclerosis. *Free Radic Biol Med.* 2005 Jan; 38(2): 153-63.
14. Gupta N, Gill K, Singh S. Paraoxonases: structure, gene polymorphism & role in coronary artery disease. *Indian J Med Res.* 2009 Oct; 130(4): 361-8.
15. Dearlove RP, Greenspan P, Hartle DK, Swanson RB, Hargrove JL. Inhibition of protein glycation by extracts of culinary herbs and spices. *J Med Food.* 2008 Jun; 11(2): 275-81.
16. Sachin BS, Sharma SC, Sethi S, Tasduq SA, Tikoo MK, Tikoo AK, et al. Herbal modulation of drug bioavailability: enhancement of rifampicin levels in plasma by herbal products and a flavonoid glycoside derived from cuminum. *Phytother Res.* 2007 Feb; 21(2): 157-63.

17. Aruna K, Rukkumani R, Varma PS, Menon VP. Therapeutic role of *Cuminum cyminum* on ethanol and thermally oxidized sunflower oil induced toxicity. *Phytother Res*. 2005 May; 19(5): 416-21.
18. Maiga A, Diallo D, Bye R, Paulsen BS. Determination of some toxic and essential metal ions in medicinal and edible plants from Mali. *J Agric Food Chem*. 2005 Mar; 53(6): 2316-21.
19. Dhandapani S, Subramanian VR, Rajagopal S, Namasivayam N. Hypolipidemic effect of *Cuminum cyminum L.* on alloxan/induced diabetic rats. *Pharmacol Res*. 2002 Sep; 46(3): 251-5.
20. Sambaiah K, Srinivasan K. Effect of cumin, cinnamon, ginger, mustard and tamarind in induced hypercholesterolemic rats. *Nahrung*. 1991; 35(1): 47-51.
21. Sushruta K, Satyanarayana S, Srinivas N, Raja Sekhar J. Evaluation of blood- glucose reducing effects of aqueous extracts of the selected umbelliferous fruits used in culinary practices. *Trop J Pharmac Res*. 2006; 5(2): 613-17.
22. Srinivasan K. Plant foods in the management of diabetes mellitus: spices as beneficial antidiabetic food adjuncts. *Int J Food Sci Nutr*. 2005 Sep; 56(6): 399-414.

